

## ОКСИД АЗОТА, АУТОРЕГУЛЯЦИЯ КОРОНАРНОГО КРОВотоКА И СТРЕСС

СОЛОДКОВ А.П., ЩЕРБИННИН И.Ю., БЕЛЯЕВА Л.Е.

*Витебский государственный медицинский университет,  
Центральная научно-исследовательская лаборатория*

**Резюме.** Оксид азота представляет собой растворимый газ с периодом полураспада от 6 до 30 сек. Он принимает участие в поддержании гомеостаза сосудистой стенки. Как его недостаток, снижение биодоступности, так и гиперпродукция способны существенно изменять коронарное кровообращение. После 6-часового иммобилизационного стресса или 2-х часовой постгеморрагической гипотензии наблюдается гипотония сосудов сердца, ослабляется процесс ауторегуляции, снижается коронарный расширительный резерв и развиваемое внутрижелудочковое давление. Блокада синтеза оксида азота полностью устраняет либо существенно ограничивает постстрессовые изменения коронарного кровотока. Поскольку различные по природе стрессоры приводят к развитию однонаправленных изменений тонуса сосудов сердца, можно высказать гипотезу о том, что в возникновении стресс-индуцированного снижения тонуса коронарных сосудов большое значение имеют неспецифические изменения функциональной активности эндотелиоцитов. Они выражаются в избыточной продукции оксида азота (возможно, и других метаболитов эндотелиального происхождения) и сопровождаются развитием коронарной сосудистой гипотонии.

**Ключевые слова:** оксид азота, ауторегуляция кровотока, стресс.

**Abstract.** Nitric oxide (a soluble gas with half-life of 6-30sec.) maintains the vascular homeostasis. Both the lack of nitric oxide and its hyperproduction can cause significant coronary circulation changes. After a 6-hour immobilization stress or a 2-hour post-hemorrhagic hypotension the cardiovascular hypotonia, the diminishing of autoregulation process, the reduction of the coronary dilation reserve and the developing intraventricular pressure are observed. The blockade of nitric oxide synthesis completely eliminates or significantly restricts the post-stress changes of coronary blood flow.

Since the stressors (different in their nature) lead to the development of single-directed changes of the cardiovascular tone it is possible to hypothesize that non-specific changes of endotheliocyte functional activity are of great importance in the development of stress-induced reduction of coronary vascular tone. They are manifested in the surplus production of nitric oxide (and possibly other metabolites of endothelial origin) and are accompanied by the development of coronary vascular hypotonia.

Эндотелий - метаболически активная система клеток, поддерживающих гомеостаз сосудистой стенки посредством модуляции сосудистого тонуса, регуляции транспорта веществ в клетки сосуда, их рост, отложение матрикса в межклеточном пространстве, защищает сосуд от потенциально агрессивных субстанций и клеток, циркулирующих в крови, а также принимает участие в регуляции процесса гемостаза, воспаления и восстановления при локальном повреждении.

Увеличивается список состояний, в патогенезе которых большое значение имеет нарушение функции эндотелиоцитов. К ним относится гиперхолестеринемия, системная гипертензия, курение, сахарный диабет, сердечная недостаточность, легочная гипертензия, дефицит эстрогенов, гипергомоцистемия, процесс старения и стресс. Эти состояния характеризуются появлением воспаления, окисленных липопротеинов, пролиферацией гладкомышечных клеток, накоплением или лизисом экстраклеточного матрикса, активацией тромбоцитов и образованием тромбов. Все эти последствия дисфункции эндотелия влияют на развитие и выраженность атеросклероза.

## Оксид азота

Оксид азота представляет собой растворимый газ с периодом полураспада от 6 до 30 сек. Он постоянно синтезируется из аминокислоты L-аргинина в эндотелиальных клетках при участии конститутивной кальций-кальмодулин-зависимой синтазы оксида азота [43]. Это гемсодержащая оксигеназа, катализирующая пятиэлектронное окисление гуанидинового атома азота L-аргинина в присутствии множества кофакторов и кислорода.

В настоящее время со всей убедительностью установлено, что ацетилхолин, гистамин, тромбин, серотонин, вещество P и изопротеринол увеличивают синтез и высвобождение оксида азота из эндотелиоцитов коронарных сосудов. Многие из них (ацетилхолин, серотонин, норадреналин и гистамин) сокращают гладкую мышцу сосуда в отсутствие эндотелия. Вазоактивные вещества, образующиеся в стенке сосудов сердца, такие, как брадикин, могут также стимулировать высвобождение оксида азота, действуя аутокринно или паракринно на V2 рецепторы эндотелия [29]. Наиболее важным физиологическим стимулом синтеза оксида азота и его высвобождения из эндотелиоцитов является напряжение сдвига, которое создает на эндотелии движущийся поток крови [35, 44, 47], а также механическая деформация сосудистой стенки, возникающая во время сокращения сердца. Следовательно, можно заключить, что тонус гладких мышц коронарных сосудов находится под влиянием субстанций, постоянно образующихся не только в миокарде, но и в стенке самих сосудов.

Воздействие оксида азота на внутриклеточные процессы может быть опосредовано его ингибирующим влиянием на активацию одного из наиболее важных факторов транскрипции NF- $\kappa$ B, который, в свою очередь, связывается с промоторами генов, ответственных за синтез провоспалительных белков. Оксид азота также принимает участие в регуляции тонуса системных, коронарных и легочных сосудов, подавляя образование одного из наиболее сильных вазоконстрикторов - эндотелина-1 [31, 37] и высво-

бождение норадреналина из симпатических нервных окончаний [37].

Таким образом, оксид азота играет ключевую роль в регуляции гомеостаза сосудистой стенки. Несмотря на то, что эндотелий-зависимые процессы должны быть обсуждены с точки зрения множественных метаболических и транскрипционных механизмов, все же оксид азота либо прямо или косвенно, но играет важную роль в их регуляции.

## Роль оксида азота в регуляции тонуса коронарных сосудов

Значение оксида азота в регуляции тонуса коронарных сосудов было продемонстрировано в эксперименте при блокаде его синтеза. L-NMMA (NG-монометил-L-аргинин-конкурентный блокатор NO-синтазы) в изолированных перфузируемых сердцах приводит к увеличению коронарного сосудистого сопротивления и значительно ослабляет дилатацию сосудов, возникающую в ответ на введение ацетилхолина и брадикинина [20, 25, 36, 19]. Добавление в перфузионную среду L-аргинина устраняет влияние L-NMMA. Введение L-NMMA в системное кровообращение бодрствующей собаке увеличивает системное артериальное давление. Блокируя высвобождение оксида азота в системном кровообращении, L-NMMA увеличивает сопротивление и в коронарном сосудистом русле [25]. Это наводит на мысль о том, что высвобождение оксида азота имеет большое физиологическое значение в регуляции тонуса системных и коронарных сосудов, особенно в артериях.

Оксид азота, высвобождающийся либо из эндотелиоцитов как газ или из других соединений повышает в клетках активность растворимой гуанилатциклазы и увеличивает содержание ц-ГМФ. Биологические эффекты оксида азота зависят от направления его высвобождения и места активации гуанилатциклазы. Увеличение уровня ц-ГМФ в прилегающих к эндотелию гладких мышцах приводит к активации зависимых от ц-ГМФ протеинкиназ, снижению в них внутриклеточной концентрации ионов

кальция и расслаблению. В то же время, высвобождение оксида азота в просвет сосуда приводит к увеличению содержания ц-ГМФ в тромбоцитах [46], к снижению их активации и адгезии к поверхности эндотелия. Оксид азота способен снижать активность факторов роста, высвобождающихся из клеток сосудистой стенки и из тромбоцитов, прикрепленных к эндотелию [17, 39, 40]. Кроме того, он обладает и противовоспалительными свойствами: подавляет синтез и экспрессию цитокинов и молекул адгезии, благодаря которым лейкоциты прикрепляются к эндотелиоцитам и проникают в сосудистую стенку [22, 27].

Quyyumi et al [45] обнаружили, что инфузия L-NMMA в коронарное сосудистое русло пациентов с нормальными ангиограммами и без факторов риска развития атеросклероза коронарных сосудов сопровождалось уменьшением их диаметра на 14% и коронарного кровотока на 19%. Это дает основание предполагать, что в нормальном коронарном кровообращении оксид азота вносит вклад в создание как артериального, так и артериолярного базального тонуса. У здоровых субъектов расширение эпикардальных коронарных артерий и микрососудов в ответ на введение ацетилхолина существенно подавлялось L-NMMA. Следовательно, в коронарном сосудистом русле ацетилхолин стимулирует высвобождение оксида азота из эндотелия коронарных сосудов.

Несмотря на то, что введение L-NMMA в коронарное кровообращение подавляет ответ сосудов на введение ацетилхолина, все же во всех случаях наблюдается незначительная остаточная вазодилатация. Это наводит на мысль о том, что в ответ на ацетилхолин, помимо оксида азота, из эндотелия высвобождаются другие дилататорные факторы. Одним из них является простагландин, который активирует аденилатциклазу и способствует увеличению внутриклеточного содержания ц-АМФ [21, 41]. Вазодилататорное действие ацетилхолина может быть опосредовано высвобождением эйкозотетраеновой кислоты, которая посредством активации кальций активируемых калиевых каналов способна гиперполяризовать мем-

брану гладкомышечных клеток коронарных сосудов. Кроме того, эндотелий артериальных сосудов сердца является источником ряда других соединений, обозначаемых как эндотелиальный фактор гиперполяризации [28]. Высвобождение данного вещества из эндотелия стимулируется теми же самыми агонистами, которые вызывают опосредованную оксидом азота дилатацию коронарных сосудов.

### **Ауторегуляции коронарного кровотока**

Под ауторегуляцией коронарного кровотока понимают способность сосудов сердца поддерживать кровоток постоянным в широком диапазоне колебаний артериального давления. В основе ауторегуляции лежит миогенный механизм, то есть ответ сосудистой стенки на ее растяжение. Тканевые метаболиты в некоторой степени способны модифицировать миогенный механизм ауторегуляции. Временное увеличение функциональной активности ткани миокарда приводит к их накоплению и сдвигу ауторегуляции на более высокий новый уровень кровотока. С другой стороны, вазоактивные метаболиты эндотелиального происхождения также модулируют тонус сосудов сердца.

Установлено, что в пределах перфузионного давления от 60 до 140 мм рт. ст. величина коронарного кровотока мало зависит от величины внутрисосудистого давления. Нижняя граница ауторегуляции примерно равна 60-70 мм рт. ст. Ниже этой границы коронарный кровоток следует за изменением артериального давления пассивно, то есть наступает срыв ауторегуляции, который сопровождается нарушением кровоснабжения миокарда [12, 42]. Значение ауторегуляции коронарного кровотока заключается в следующем. Во-первых, при использовании микросфер с целью измерения трансмурального перераспределения коронарного потока появилась возможность изучения тонуса коронарных сосудов в различных слоях миокарда. Оказалось, что ауторегуляция в эпикардальных коронарных сосудах выражена лучше, чем в субэндокардиальных.

Это значит, что тонус сосудов эпикардиальных слоев миокарда гораздо выше, чем в субэндокарде. Другими словами, благодаря более высокому тону эпикардиальных артерий большая часть крови поступает в сосуды субэндокарда, тонус которых значительно ниже. Кроме того, благодаря ауторегуляции кровотока поддерживается постоянная величина гидростатического давления в капиллярах, и тем самым стабилизируются условия трансапикардиального обмена.

В сердце наблюдается отчетливая ауторегуляция в присутствии оксида азота. Блокада его синтеза приводит к уменьшению кровотока, а область ее наибольшей выраженности расширяется. При этом сосуды сердца становятся ригидными, нарушается их способность растягиваться и отвечать сокращением на растяжение [14]. В противоположной ситуации, когда усиливается образование оксида азота, эффективность ауторегуляции значительно уменьшается. На основании этого можно предположить, что оксид азота является важным фактором, противостоящим усилению миогенной активности коронарных гладких мышц. Это свойство оксида азота особенно четко проявляется при сужении коронарных сосудов.

### **Эндотелийзависимое влияние на тонус сосудов при стрессе**

В условиях нормы увеличение коронарного кровотока, возникающее во время психоэмоционального стресса или физической нагрузки, вызвано усилением сокращений миокарда и возрастанием сердечного выброса. Это приводит к увеличению напряжения сдвига, возникающего на поверхности эндотелия, и сопровождается дилатацией системных и коронарных артерий [24, 28]. Расширение сосудов сердца, происходящее в этих условиях, также может быть опосредовано активацией адренорецепторов, расположенных на эндотелии. Удаление эндотелия усиливало ответную реакцию изолированной аорты на норадреналин после эмоционально-болевого стресса [5, 6, 7, 8, 9]. В данных экспериментах усиление ингибирующего сокращения сосудистой стенки дей-

ствия эндотелия проявлялось в чрезмерной активации альфа<sub>2</sub>-адренорецепторов эндотелиоцитов, посредством которых усиливалось высвобождение эндотелиального фактора релаксации. Показано, что наблюдаемое при стрессе стимуляция  $\alpha$  и  $\beta$ -адренорецепторов приводит к активации генов быстрого ответа (*c-fos*; *fos-B*; *c-jun*; *junB*, *NGFI-A*). Однако она заканчивается к концу первого часа стрессорного воздействия. Таким образом, активация адренорецепторов несомненно вносит свой вклад в развитие ранних, характерных для стресса фенотипических изменений эндотелия, гладких мышц коронарных сосудов и миокарда [48].

Остается неясным вопрос, каков вклад напряжения сдвига в изменение чувствительности коронарных сосудов к дилатирующим метаболитам, высвобождающимся из миокарда, при характерном для стресса повышении потребности миокарда в кислороде. В отличие от эпикардиальных артерий, имеющих богатую иннервацию, сосуды микроциркуляторного русла сердца в большой степени находятся под контролем тканевых метаболитов. Во время стресса увеличивается высвобождение различных веществ миокардиального происхождения, (аденозин, пируват, ионы калия и др.), что сопровождается активацией АТФ-чувствительных калиевых каналов гладкомышечных клеток и дилатацией коронарных сосудов. Возможно, именно с этим связано вызываемое ингибированием синтеза оксида азота нарушение дилатации коронарных сосудов при электрической стимуляции сердца или при физической нагрузке [20, 28, 38]. Таким образом, на артериолярном уровне регуляции кровотока существует избыток вазодилататорных сигналов. Это позволяет адекватно увеличивать кровоток и, таким образом, приспосабливать его величину соответственно потребности миокарда.

Г. Селье (1970) [11] предполагал, что затяжные безвыходные стрессорные ситуации приводят к продолжительному включению систем адаптации (активации симпатической

и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем), повреждение которых характеризуется состоянием дистресса и в конце концов приводит к развитию болезни. Длительная и выраженная стресс-реакция организма сопровождается несомненным влиянием на эндотелиоциты. Показано зависимое от адреналина увеличение проницаемости эндотелия перфузируемой аорты кролика к липопroteинам низкой плотности [3, 10]. Стимуляцию проницаемости эндотелия и изменение его морфологии удавалось предотвратить, если в перфузат с адреналином вводили бета-адренергические блокаторы (пропранолол, беталок), но не альфа-блокаторы (фентоламин). Эти результаты продемонстрировали возможность рецептор-опосредуемого поражения эндотелия катехоламинами, которые являются главными медиаторами стресса. Можно предположить, что влияние стресса на функцию эндотелиоцитов реализуется и через цитокины макрофагального происхождения [26]. Так, холодовой стресс приводит к активации перитонеальных макрофагов мыши и увеличению их фагоцитарной активности, адгезивности и способности продуцировать свободные радикалы, а также такие цитокины, как интерлейкин-1, интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли [32, 33]. Предполагается, что в механизме стрессорной активации макрофагов принимает участие субстанция P, концентрация которой в крови при этом состоянии существенно увеличивается [24, 49, 50].

Кроме того, Ch. Jern с соавт. (1988) [33], О.Л. Колесников с соавт. (1994) [2], Шейко В.И., Лунина Н.В. (1996) [18] убедительно продемонстрировали, что стресс сопровождается активацией лейкоцитов. При этом увеличивается активность лизосомальных ферментов в крови и уменьшается количество окрашиваемых гранул в лейкоцитах, что может быть причиной повреждения эндотелия кровеносных сосудов при стрессе и, в частности, снижения его антитромбогенных свойств.

Стресс может способствовать перестройке сосудистой стенки, оказывая свое влияние непосредственно на гладкие мышцы [30]. Это возможно, поскольку при раз-

витии характерной для стресса гипертензивной реакции в аорте обычных крыс наблюдается экспрессия генов, ответственных за синтез белков теплового шока и их концентрация увеличивается в 2.6 раза, а у спонтанногипертензивных животных - в 4,6 раза. Интерес к данному рода белкам был обусловлен их влиянием на поддержание определенной белковой структуры клетки, а следовательно, фенотипической адаптации [10].

Установлено, что существует достоверная связь между активностью ренин-ангиотензиновой системы, принимающей участие в регуляции тонуса сосудов, и интенсивностью стрессорного воздействия [34]. Острый физический или психический стресс сопровождается увеличением концентрации ренина в плазме крови. Предполагается, что этот эффект стресса связан с активацией симпатической нервной системы, поскольку введение блокаторов бета-адренорецепторов почти полностью устраняет его влияние. Увеличение ренина в плазме крови, характерное для хронического стресса, можно наблюдать даже через 24 часа после окончания стрессорного воздействия. Данное увеличение ренина в плазме крови было связано с экспрессией генов, ответственных за его синтез. Ангиотензин II имеет важное значение в ответе на действие стрессоров различной природы. Кроме того, существуют доказательства того, что он принимает участие в регуляции высвобождения норадреналина из окончаний симпатической нервной системы [40, 50]. Необходимо отметить, что практически нет исследований, посвященных влиянию стресса на локальную ренин-ангиотензиновую систему, в частности, расположенную на эндотелиоцитах сосудистой стенки.

Практически мало изученным остается вопрос о влиянии стресса на продукцию эндотелиоцитами сосудов различных органов оксида азота. Однако можно предположить, что оксид азота имеет большое значение в стрессорном снижении тонуса сосудов сердца, что было обнаружено при радиационном [4] и нами при иммобилизационном стрессе.

### НО-зависимый механизм изменения функции коронарных сосудов при стрессе

После иммобилизационного стресса наблюдается увеличение объемной скорости коронарного потока, определяемой при разных уровнях перфузионного давления на фоне снижения развиваемого внутрижелудочкового давления (рис. 1, 2). Данное явление, отмеченное нами [13, 14, 15], может быть охарактеризовано как гиперперфузия миокарда, поскольку постстрессорное падение сосудистого тонуса в данном случае не является следствием изменения потребности миокарда в кровоснабжении. Имеющая место при стрессе диссоциация между развиваемым внутрижелудочковым давлением и величиной объемной скорости коронарного потока после деэндотелизации коронарных сосудов сапонином или введения блокатора синтеза оксида азота L-NMMA уменьшалась, но не устранялась полностью. В то же время, повреждение эндотелия коронарных сосудов или блокада синтеза оксида азота не оказывало влияния на стрессорное снижение сократительной функции миокарда. Следовательно, механизм постстрессорного расширения сосудов сердца отличается от механизма развития снижения сокра-

тительной функции миокарда, наблюдаемой после стресса, является эндотелийзависимым феноменом и определяется гиперпродукцией оксида азота. Устраняя постстрессорное увеличение объемной скорости коронарного потока, блокатор оказывал выраженное влияние на интенсивность перфузии сердца, способствовал восстановлению ее эффективности.

Изучение зависимой от напряжения сдвига эндотелиоцитов дилатации сосудов проводили на изолированных сердцах, перфузируемых в условиях постоянного потока [16]. Процент снижения коронарного перфузионного давления, обусловленного возрастанием напряжения сдвига эндотелиоцитов после вызванного хлористым калием (34мМ) первоначального его увеличения, или, другими словами, реакция ускользания из-под констрикторного влияния хлористого калия, в сердцах животных, перенесших стресс, была на 15% больше по сравнению с контролем (рис. 3А, Б). Следовательно, стресс усиливает обусловленную увеличением напряжения сдвига эндотелиоцитов и индуцируемую потоком дилатацию сосудов сердца.

В то же время, иммобилизационный стресс вызывал ослабление стимулируемой эндотелийзависимой ответной реакции ко-

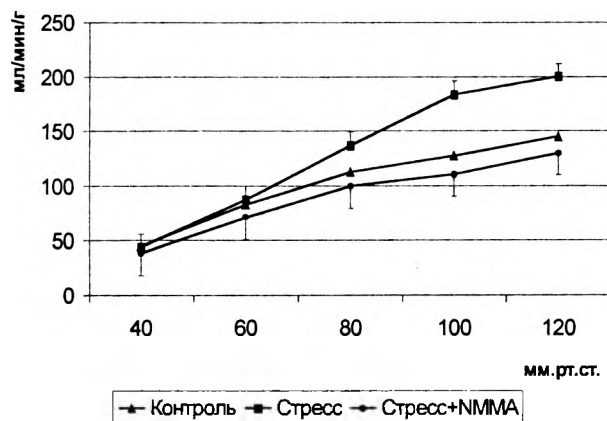


Рис. 1. Влияние NMMA на объемную скорость коронарного потока изолированного сердца крыс, перенесших иммобилизационный стресс. По оси абсцисс — перфузионное давление (мм.рт.ст.), по оси ординат — объемная скорость коронарного потока (мл/мин/г). \* -  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

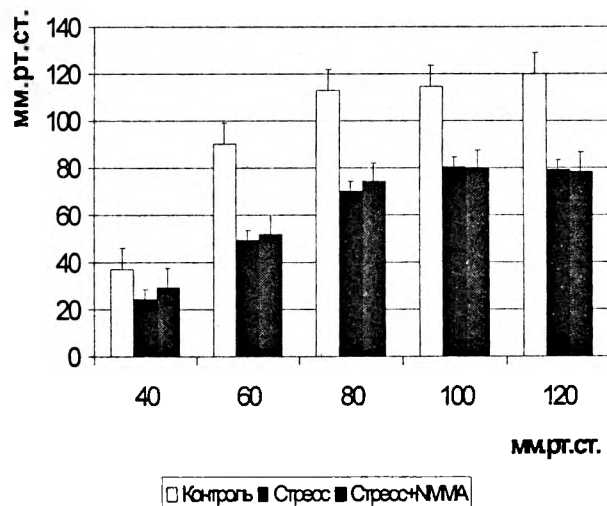


Рис. 2. Влияние NMMA на стрессорные изменения сократительной функции миокарда изолированного сердца. По оси абсцисс — перфузионное давление (мм.рт.ст.), по оси ординат — развиваемое внутрижелудочковое давление (мм.рт.ст.). \* -  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

ронарных сосудов на введение ацетилхолина и гистамина. Это может быть вызвано как уменьшением чувствительности холино- и гистамино-рецепторов, расположенных на эндотелиоцитах, так и изменением чувствительности гладкомышечных клеток коронарных сосудов к высвобождающемуся из эндотелия оксиду азота [15].

акцию коронарных сосудов, вызываемую калийзависимой деполяризацией гладких мышц. Это свидетельствует о том, что основным местом стрессорных изменений сосудистой стенки является эндотелий, но не гладкомышечные клетки коронарных сосудов, которые оказались менее подвержены стресс-обусловленным изменениям.

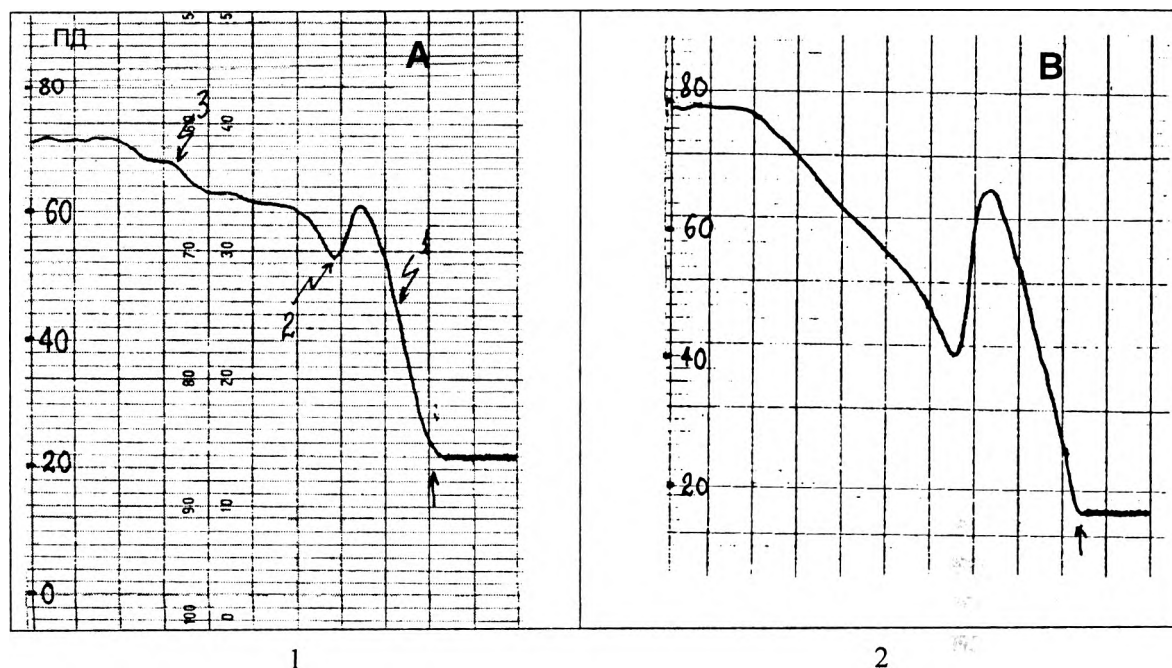


Рис.3. Запись изменений коронарного перфузионного давления (мм.рт.ст.), наблюдаемого после переключения перфузии на гиперкалиевый раствор (34 мМ KCl). А – контроль, В – стресс. 1 – быстрая фазная компонента, 2 – дилатация, обусловленная увеличением сдвигового напряжения эндотелиоцитов.

Вызываемое стрессом усиление базальной продукции оксида азота, по-видимому, является причиной уменьшения чувствительности гладких мышц коронарных сосудов к нитропруссиду натрия, поскольку усиление высвобождения эндогенного оксида азота ослабляет эффект экзогенного оксида азота. Это обусловлено вовлечением в обоих случаях одного и того же эффективного механизма расслабления гладких мышц коронарных сосудов - активацией растворимой гуанилатциклазы и увеличением содержания в них цГМФ [15].

Абсолютные значения эндотелийнезависимой констрикторной реакции, наблюдаемой после интракоронарного введения возрастающих концентраций хлористого калия, не изменялись [15]. Следовательно, стресс не оказывал влияние на констрикторную ре-

Поскольку изменение активности эндотелиоцитов в различных физиологических условиях и, в частности при стрессе, только начинает изучаться, многое остается неясным. Исходя из того, что существует две синтазы NO - конститутивная и индуцируемая, а также того факта, что под влиянием стресса усиливается высвобождение оксида азота из эндотелиоцитов, возникает вопрос, какой из двух указанных механизмов может вызывать это усиление. Увеличение базального синтеза оксида азота, возможно, связано с активацией при стрессе специфических рецепторов на эндотелиоцитах (адренорецепторов, рецепторов к тромбину, серотонину и др.) [34], процессов свободно-радикального окисления, также может опосредоваться не рецепторным, гемодинамическим механизмом (увеличением напряжения



сдвига эндотелиоцитов). Конститутивная синтаза оксида азота эндотелиоцитов является кальцийзависимым ферментом. Следовательно, весьма вероятно, что под влиянием стресса увеличивается внутриклеточная концентрация кальция в цитозоле эндотелиоцитов, подобно тому, как это происходит в других клетках [3], что и приводит к стимуляции синтеза оксида азота при этом состоянии [8].

Поскольку эффект стресса проявляется и на изолированном сердце, можно полагать, что он устойчив, и поэтому, видимо, обусловлен активацией не только конститутивной, но и индуцибельной синтазы оксида азота, появляющейся как в эндотелиальных, так и в гладкомышечных клетках сосудов [7].

### **Индивидуальная чувствительность к стрессу и NO-зависимая регуляция тонуса сосудов сердца**

Наряду с разработкой подходов к определению функционального состояния эндотелия, как одного из направлений, можно рассматривать исследование последствий воздействия интенсивного стресса на его NO-продуцирующую функцию у животных, имеющих различную степень чувствительности к стрессу. Несмотря на то, что эмоциональный стресс вызывает отчетливую эпигеномную перестройку ультраструктуры эндотелиоцитов и базальной мембраны восходящей части дуги аорты у пассивных крыс [17], функция сосудов сердца остается малоизученной. Более того, отсутствует информация о роли и механизме обусловленных стрессом изменений эндотелиальной системы синтеза оксида азота в сосудах сердца у животных с разными индивидуально-типологическими особенностями поведения. Данный вопрос и стал предметом наших исследований [16].

Опыты проводили на беспородных крысах, которых в тесте «открытое поле» разделяли на животных с высокой («активные») и низкой («пассивные») двигательной и поисково-ориентировочной реакцией. Коронарный поток и сократительную

функцию миокарда изучали на препаратах изолированного сердца.

6-часовой иммобилизационный стресс, как это наблюдалось нами ранее, сопровождался увеличением коронарного потока на фоне уменьшения внутрижелудочкового давления, то есть снижением эффективности коронарного кровообращения, способности сосудов сердца к ауторегуляции и коронарного расширительного резерва. Однако это прослеживалось только у «пассивных», чувствительных к стрессу крыс и практически отсутствовало у устойчивых «активных» животных. Таким образом, в изолированных сердцах «пассивных» животных наблюдалась абсолютная и относительная гиперперфузия миокарда. Блокада синтеза оксида азота в изолированных сердцах «пассивных» крыс, перенесших стресс, оказала значительно больший эффект, чем до стресса или в сердце «активных» крыс и практически полностью устраняла постстрессорное увеличение коронарного потока. Полученные результаты свидетельствуют о том, что под влиянием стресса у животных с «пассивным» типом поведения наблюдается либо увеличение продукции оксида азота эндотелиоцитами коронарных сосудов, либо повышение чувствительности к нему гладкомышечных клеток.

Разная чувствительность клеток коронарных сосудов и миокарда крыс к воздействию стресса может определяться генетически детерминированными особенностями их фенотипа. В пользу данного предположения свидетельствует то, что у «активных» животных по сравнению с «пассивными» содержание в плазме крови нитратов и нитритов снижено на 38%. После стресса концентрация продуктов деградации оксида азота в обеих группах не различалась, однако степень их прироста у «пассивных» крыс оказалась значительно меньше, чем у «активных». Можно предположить, что базальная и стимулируемая NO-зависимая регуляция сосудистого тонуса может определяться различной интенсивностью метаболизма, т.к. «активные» крысы до стресса почти в 2 раза более



интенсивно потребляли кислород по сравнению с «пассивными». Таким образом, крысы с различным типом двигательной активности и устойчивостью к стрессу характеризуются разным врожденным уровнем продукции оксида азота. Это предположение нашло подтверждение в работе Пшенниковой М.Г. и соавт. (2000) [9], в которой было показано, что уровень продукции оксида азота в организме у крыс линии Август выше, чем у крыс линии Вистар. При этом у крыс линии Август наблюдался более высокой устойчивостью к образованию стрессорных язв, чем у крыс линии Вистар. Предполагается, что исходно повышенная продукция оксида азота может обеспечивать крысам линии Август более эффективную защиту от стрессорных язв желудка.

Вполне вероятно, что разное содержание свободных радикалов, изменяя редокс состояние белков клетки, способно модифицировать активность генома и принимать участие в формировании устойчивого или предрасположенного к стрессу фенотипа гладкомышечных и эндотелиальных клеток, характерного для крыс с разной устойчивостью к стрессу.

### **Оксид азота и ауторегуляция сосудов после острой кровопотери**

После 2-х часовой постгеморрагической гипотензии (снижение среднего артериального давления до 40 мм рт.ст.) в изолированных сердцах крыс наблюдалось существенное возрастание, в среднем на 34%, объемной скорости коронарного потока и снижение внутрижелудочкового развиваемого давления на 28-36%. Ингибирование NO-синтазы в сердцах крыс, перенесших кровопотерю, уменьшало коронарный поток на 21%, но не возвращало его к контрольному уровню, найденному также в условиях блокады синтеза оксида азота [1]. Таким образом, 2-х часовая постгеморрагическая гипотензия сопровождалась активацией NO-продуцирующей функции эндотелиоцитов. После кровопотери уменьшение выраженности вазоконстрикции в от-

вет на введение блокатора синтеза оксида азота может свидетельствовать как о повышении образования в сердце или в стенке коронарных сосудов, кроме оксида азота, других веществ с сосудорасширяющим действием – эндотелиального фактора гиперполяризации и простациклина, а также и о нарушении сократительной способности сосудистых гладких мышц.

Таким образом, снижение тонуса коронарных сосудов и, как следствие, ослабление их способности к ауторегуляции отмечалось не только при иммобилизационном стрессе, но и после кровопотери. Сходный характер нарушения сосудистого тонуса коронарных сосудов, возможно, опосредован стереотипным ответом эндотелия в этих условиях. Важнейшим проявлением такого ответа является возрастание синтеза оксида азота. В то же время отчетливо наблюдается, что различные по природе стрессоры имеют характерные последствия увеличения функциональной активности эндотелиоцитов. В условиях гипоксии при геморрагии усиление свободно-радикального окисления и продукции оксида азота может приводить к формированию пероксинитрита, способного прямо нарушать сократительную функцию гладких мышц.

### **Заключение**

На основании выше приведенных данных можно заключить, что в возникновении стресс-индуцированного снижения тонуса коронарных сосудов большое значение имеют неспецифические изменения функциональной активности эндотелиоцитов. Они выражаются в избыточной продукции оксида азота (возможно, и других метаболитов эндотелиального происхождения) и сопровождаются развитием коронарной сосудистой гипотонии. Одновременное появление больших количеств оксида азота и супероксиданиона, как правило, приводит к образованию пероксинитрита. Подобная ситуация наиболее вероятна при гипоксии, возникающей при постгеморрагической гипотензии. Кроме того, пероксинит-

рит, воздействуя на комплекс дыхательной цепи в митохондриях [23], способен снижать трансмембранный потенциал и вызывать утечку из них цитохрома C. Следовательно, создаются предпосылки для усиления апоптоза эндотелиоцитов. В результате снижается способность интимы противостоять вазоконстрикторному влиянию субстанций, образующихся при стрессе (норадреналин, серотонин, ангиотензин II и др.), а также возникают условия, способствующие появлению атеросклероза, сосудистого спазма или образованию пристеночного тромба. Таким образом, интенсивный достаточно продолжительный стресс сопровождается развитием избыточной продукции оксида азота, которая способна оказывать чрезмерное вазодепрессорное и, по-видимому, цитотоксическое действие.

### Литература

1. Беляева Л.Е., Шебеко В.И., Солодков А.П. Сходство влияния N-ацетилцистеина и предварительно перенесенного стресса на характер нарушения тонуса коронарных сосудов после острой кровопотери // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования/ Труды Респ.научно-практ.конф. – Витебск, 2000. – С.53-59.
2. Колесников О.Л., Волчегорский И.А., Цейликман В.Э. и др. Нейтрофилокины как индукторы стресса // Бюлл. эксперим. биол. и медицины.- 1994.- Т. 117, N 3.- С. 257-258.
3. Кондаков И.А., Войно-Ясенецкая Т.А., Тарарак Э.М. Рецептор опосредованный механизм катехоламиновых повреждений эндотелия магистральных артерий // Арх. патологии 1989.-Т. 51, N 4.- С. 21-28.
4. Лобанок Л.М., Лукша Л.С. Эндотелий-зависимая и эндотелийнезависимая модификация вазоконстрикторных эффектов серотонина в ближайшие и отдаленные сроки пострадиационного периода // Доклады Академии наук Беларуси. – 1994. – Т.38, N 4. – С. 88-92.
5. Манухина Е.Б. Удаления эндотелия устраняет стрессорное снижение адренореактивности аорты // Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1990.-Т. 110, N 8.- С. 136-138.
6. Манухина Е.Б., Лапшин А.В., Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю. Влияние адаптации к физической нагрузке на эндотелийзависимые реакции изолированных сосудов на продукцию NO у крыс // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова.- 1996.- Т.82, N 7.-С.54-60.
7. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю., Микоян В.Д. и др. Увеличение продукции NO в органах крыс при тепловом шоке.// Бюлл. эксперим. биол. и мед.- 1996.- N6.- С. 36-38.
8. Меерсон Ф.З., Павлова В.И., Сухих Т.Т. Постстрессорная активация синтеза нуклеиновых кислот и белков и ее роль в адаптационных реакциях организма // Патол. физиол. и эксперим. терапия. - 1982.- N 5.- С. 3-17.
9. Пшенникова М.Г., Смирин Б.И., Бондаренко О.Н., Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Депонирование оксида азота у крыс разных генетических линий и его роль в антистрессорном эффекте адаптации к гипоксии // Российский физиол.журн.-2000,-Том.86,N2.-С.174-181.
10. Репин В.С., Преображенский С.Н., Мишарин А.Ю. и др. Клеточные механизмы атеросклероза человека // Бюлл. ВКНЦ.- 1985.- Т.7, N 1.- С. 19-34.
11. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме.: Медицина, 1986.-223с.
12. Солодков А.П. Стрессорные изменения функции коронарных сосудов интактного и гипертрофированного сердца и тиреоидные гормоны: Автореф.дисс. канд. мед. наук:14.00.17 / Институт нормальной физиологии АН РБ. - Минск,1991.-24с.
13. Солодков А.П., Божко А.П. Изменение активности эндотелиоцитов коронарных сосудов под влиянием стресса // Физиол. ж. им.И.М.Сеченова. – 1994. – Т.80.4. – С.65-72.
14. Солодков А.П., Божко А.П. Изменения тонуса коронарных сосудов в результате иммобилизационного стресса // Бюлл. Экспер.биол. и мед. – 1994. - № 9. – С.246-249.
15. Солодков А.П. Оксид азота и развитие постстрессорной гипотензии // Проблемы теоретической медицины и фармации: Сб.научн.тр. – Витебск, 1997б. – С. 43-45.
16. Солодков А.П., Щербинин И.Ю. Реакция эндотелиальной системы синтеза NO коронарных сосудов у крыс с различной чувствительностью к стрессу// Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования/ Труды Респ.научно-практ.конф. – Витебск, 2000. – С.35-43.
17. Шахламов В.А., Судаков К.В., Перцов С.С.,Алтухова В.И., Буравков С.В. Изменения ультраструктуры интимы дуги аорты у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу // Бюлл.эксперим.биол.и мед.-2000.-Том.118,N5.-С.25-29.
18. Шейко В.И., Лунина Н.В. Стан гранулоцитарной системы за умов иммобилизационного стрессу при иммуности-муляции // Физиол. журн.- 1996.- Т. 42, N1-2.- С. 91-95.
19. Altman J.D., Kinn J., Dunker D.J., Bache R.J. Effect of inhibition of nitric oxide formation on coronary blood flow during exercise in the dog// Cardiovasc. Res. – 1994. – Vol. 28. – 119-124.

20. Amezcua JL, Palmer RMJ, de Souza BM, Moncada S. Nitric oxide synthesized from L-arginine regulates vascular tone in the coronary circulation of the rabbit // *Br J Pharmacol* 1989;97:1119-24.
21. Bath PMW, Hassall DG, Gladwin A-M, Palmer RMJ, Martin JF. Nitric oxide and prostacyclin: divergence of inhibitory effects on monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium in vitro // *Arterioscler Thromb* 1991;11:254-60.
22. Brawn G.C. Nitric oxide and mitochondrial respiration//*Biochim. Biophys Acta.* – 1999. – N 1411. – P. 351-369.
23. Cardillo C., Kilcoyne C.M., Quyyumi A.A. et al. Role of nitric oxide in the vasodilator response to mental stress in normal subjects// *Am. J. Cardiol.* – 1997. – Vol. 80. – P. 1070-1074.
24. Chancellor-Freeland C., Zhu G.F., Kage R. e.a. Substance P and stress-induced changes in macrophages // *Stress. Basic mechanisms and clinical implications. Annals New York Academy of Sciences.* - New York, 1995. - P. 472-484.
25. Cnu A, Chambers DE, Lin CC, Kuehl WD, Palmer RMJ, Moncada S, Cobb FR. Effects of inhibition of nitric oxide formation on basal vasomotion and endothelium-dependent responses of the coronary arteries in awake dogs // *J Clin Investig* 1991;87:1964-8.
26. De Caterina R, Libby P, Deng H-B, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA Jr. et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines // *J Clin Investig* 1995;96:60-8.
27. Gage JE, Hess OM, Murakami T, Ritter M, Grimm J, Kravenbuehl HP. Vasoconstriction of stenotic coronary arteries during dynamic exercise in patients with classic angina pectoris: reversibility by nitroglycerin. // *Circulation.* - 1986. - Vol.73. - P.865-876.
28. Griffith T.M., Hughes E.D., Lewis M.J. e.a. Ergometrine-induced arterial dilatation: an endothelium-mediated effect // *J.Mol.Cell.Cardiol.* - 1984. - Vol.16. - P. 479-482.
29. Groves P, Kurz S, Just H, Drexler H. Role of endogenous bradykinin in human coronary vasomotor control // *Circulation.* - 1995. - Vol.92, N34. - P.24-30.
30. Hamet P.D., Malo T., Haashimoto J. e.a. Heat stress genes in hypertension // *J.Hyper.* - 1990. - Vol.8 (Suppl.7). - P. 547-552.
31. Harrison V.J., Corder R., Anggard E.E., Vane J.R. Evidence for vesicles that transport endothelin-1 in bovine aortic endothelial cells // *J.Cardiovasc.Pharmacol.* - 1993. - Vol.22 (Suppl). - P. S57-S60.
32. Jang C.G., Morrow-Tesch L., Beller D.I. Immunosuppression in mice induced by cold water stress // *Brain. Behav. Immun.* - 1990. - Vol. 4. - P. 278-291.
33. Jern C., Wadenvik H., Mark R. e.a. Haematological changes during acute mental stress // *Brit. J. Haematol.* - 1989. - Vol. 71, N 1. - P. 153-156.
34. Jindra A., Kvetnansky R. Stress-induced activation of inactive renin // *J.biol.chem.* - 1982. - Vol. 257. - P. 5997-5999.
35. Joannides R. Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, Luscher TF. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo // *Circulation.* - 1995. - Vol.91. - P.1314-1319.
36. Levi R, Gross SS, Lamparter B, Fasehun OA, Aisaka K, Jaffe EA, et al. Evidence that L-arginine is the biosynthetic precursor of vascular and cardiac nitric oxide. In: Moncada S, Higgs EA, eds. Nitric oxide from L-arginine: a bioregulatory system. Amsterdam: Excerpta Medica;1990;35-45.
37. Levin ER. Endothelins // *N Engl J Med.* - 1995. - Vol.323. - P.356-363.
38. Matsunaga T., Okumura K., Tsunoda R., Tayama S., Tabuchi T., Yasue H. Role of adenosine in regulation of coronary flow in dogs with inhibited synthesis of endothelium-derived nitric oxide// *Am.J.Physiol.* – 1996. – Vol. 270. – P. H427-434.
39. McNamara DB, Bedi B, Aurora H, Tena L, Ignarro U, Kado PJ, Akers DL. L-arginine inhibits balloon catheter-induced hyperplasia // *Biochem Biophys Res Commun.* - 1993. - Vol.193. - P.291-296.
40. Minamino T., Kitakaze M., Node Koichi e.a. Inhibition of nitric oxide synthesis increases adenosine production via extracellular pathway through action of protein kinase C // *Circulation.* - 1997. - Vol.96, N 5. - P.1586-1592.
41. Moncada S. Vane JR. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A<sub>2</sub> and prostacyclin // *Pharmacol Rev.* - 1979. - Vol.30. - P.293-331.
42. Mosher P., Ross J.Jr., McFate P.A., Shaw R.F. Control of coronary blood flow by an autoregulatory mechanism// *Circ.Res.* – 1964. – Vol. 14. – P. 250.
43. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine // *Nature.* - 1988. - Vol.333. - P.664-666.
44. Pohl U., Holtz J., Busse R. e.a. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo // *Hypertension* - 1986. - Vol.8. - P.27-44.
45. Quyyumi A.A., Dakak N., Andrews N.P. et al. Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for atherosclerosis// *J. Clin.Invest.* – 1995. – Vol. 95. – P. 1747-1755.
46. Radomski MW, Moncada S. Biological role of nitric oxide in platelet function. In: Moncada S, Higgs EA, Berrazuela ER, eds. Clinical relevance of nitric oxide in the cardiovascular system. Madrid, Spain: Edicomplet, 1991;45-56.
47. Rubani GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-Induced release of endothelium-derived relaxing factor // *Am J Physiol.* - 1986. - Vol.250. - P.H1145-H1149.
48. Takashi N., Yoshida K.J., Seuba E. Emotional

- stress induces immediate-early gene expression in rat heart via activation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenoreceptors // Am.J.Physiol. – 1999. – Vol. 227 (Heart Circ.Physiol.). – P. H1553-1561.
49. Van Gool J., Van Vugt H., Helle M. e.a. The relation among stress, adrenalin, interleukin-6 and acute phase proteins in the rat // Clin. Immunol. Immunopathol.-1990.- Vol. 57.- P. 200-204.
50. Zhou D.A., Kusnecov W., Shurin M.R. e.a. Exposure to physical and psychological stressors elevates plasma interleukin-6: relationship to the activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis / Endocrinology. - 1993.- Vol.133.- P. 2523-2530.

Поступила 09.01.2001г.  
Принята в печать 01.03.2001г.

© ШЕБЕКО В.И., 2002

## РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ ФЕНОТИПА ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ: ОТ ХАОСА К ПОРЯДКУ

ШЕБЕКО В.И.

Витебский государственный медицинский университет,  
Кафедра патофизиологии

**Резюме.** Современные исследования продемонстрировали, что внутриклеточное редокс-состояние регулирует сигнальные пути в эукариотических клетках. Редокс-состояние клеток поддерживается внутриклеточными редокс-регулирующими молекулами, включающими тиоредоксин, глутаредоксин, пероксиредоксины и др. В этом обзоре обсуждаются механизмы редокс-регуляции фенотипа эндотелиальных клеток.

**Ключевые слова:** редокс-регуляция, эндотелий, NF- $\kappa$ B, воспаление, комплемент.

**Abstract.** Recent studies have shown that cellular signal pathways are regulated by the intracellular redox state. Cellular redox status is maintained by intracellular redox-regulating molecules, including thioredoxin, glutaredoxin, peroxiredoxins and others. In this review we discuss the mechanisms of redox regulation of endothelial cells phenotype.

Многочисленные экспериментальные и клинические наблюдения показывают, что фенотип эндотелиоцитов кровеносных сосудов характеризуется выраженной динамичностью, несмотря на действие механизмов

клеточной памяти о состоянии достигнутой цитодифференцировки [14]. Динамический характер фенотипа эндотелиоцитов определяется, прежде всего, тем, что они функционируют в условиях постоянного влияния «избыточного» количества физиологических «сигналов». Причем такие «сигналы» имеют как физическую (например, напряжение

**Адрес для корреспонденции:** 210023,  
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный  
медицинский университет, кафедра патофизиологии  
- Шебеко В.И.